

AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA SPONS DARI PERAIRAN TASIK RIA TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

(The Antibacterial Activity Of Several Sponges From The Waters Of Tasik Ria Against
Escherichia coli And *Staphylococcus aureus* bacteria)

Abrianto A. O. Rompis^{1*}, Fitje Losung¹, Deiske A. Sumilat¹, Agung B. Windarto¹,
Stenly Wullur¹, Laurentius T. X. Lalamentik²

(¹) Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Sam Ratulangi, Manado.e-mail : abriantorompis@gmail.com

(²) Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan
Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

ABSTRACT

The sponge is one of the sea organisms that has a prospect as a source of natural compounds including peptides, steroids, aetogenin, terpenoids, alkaloids, cyclic halide and nitrogen. This research was directed to obtain several species of sponges from the waters of Tasik Ria as well as testing the antibacterial activity of extracts from some of the sponge against the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. From the identification, seven species of sponges were found, which consists of: *Amphimedon* sp., *Axinosa* sp., *Aaptos* sp., *Theonella* sp., *Cribochalina* sp., *Hyrtios* sp., and *Lendenfeldia* sp. The tests of antibacterial activity of the extracts from these sponges against test bacteria *E. coli* and *S. aureus* showed some positive results. Extract from *Axinosa* sp. sponge (16 mm) showed the strongest antibacterial activity on *Escherichia coli* bacteria. Followed by *Hyrtios* sp. extract (13.5 mm), *Aaptos* sp. extract (13 mm), *Lendenfeldia* sp. extract (13 mm) and *Cribochalinai* sp. extract (10.5 mm). While the the tests on *Staphylococcus aureus* bacteria showed that the strongest antibacterial activity was found from *Axinosa* sp. sponge extract (16.5 mm), followed by the extract from *Aaptos* sp. (15 mm), *Lendenfeldia* sp. extract (14.5 mm), *Hyrtios* sp. extract (13.5 mm) and *Cribochalina* sp. extract (11 mm).

Keywords: *Sponge, antibacterial, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu biota laut yang sangat prospektif sebagai sumber senyawa bahan-bahan alami antara lain peptide, terpenoid, steroid, aetogenin, alkaloid, halide siklik dan senyawa nitrogen. Penelitian ini diarahkan untuk mendapatkan beberapa spesies spons dari perairan Tasik Ria serta menguji aktivitas antibakteri dari beberapa ekstrak spons terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil identifikasi spons ditemukan sebanyak tujuh spesies yang terdiri dari: *Amphimedon* sp., *Axinosa* sp., *Aaptos* sp., *Theonella* sp., *Hyrtios* sp., *Cribochalina* sp. dan *Lendenfeldia* sp.. Aktivitas antibakteri dari beberapa ekstrak spons terhadap bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* terdapat diameter zona hambat bervariasi yaitu bakteri *Escherichia coli* menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak spons terkuat pada spons *Axinosa* sp (16 mm), disusul ekstrak spons *Hyrtios* sp. (13,5 mm), ekstrak spons *Aaptos* sp. (13 mm), ekstrak spons *Lendenfeldia* sp. (13 mm) dan ekstrak spons *Cribochalinai*

sp. (10,5 mm). Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak spons terkuat yaitu: ekstrak spons *Axinosa* sp. (16,5 mm), disusul ekstrak spons *Aaptos* sp. (15 mm), ekstrak spons *Lendenfeldia* sp. (14,5 mm), ekstrak spons *Hyrtios* sp. (13,5 mm) dan ekstrak spons *Cribochalina* sp. (11mm).

Kata Kunci : Spons, Antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Negara Republik Indonesia memiliki wilayah laut yang sangat luas sehingga menjadikan Indonesia sebagai negara bahari yang kaya akan sumber daya hayati laut. Selain itu laut berfungsi sebagai cadangan sumber air di dunia, habitat untuk berbagai biota, dan bahan makanan dari berbagai biota laut, tetapi juga sebagai sumber bahan pembuatan kosmetik dan obat-obatan. Salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan yaitu spons (Dault, 2009; Darajati *et al.*, 2016).

Sejumlah senyawa metabolit sekunder dengan potensi farmakologis dari organisme laut seperti poliketida, alkaloid, terpenoid, peptide, protein, lipida, shikimate, glikosida, dan isoprenoida telah ditemukan beberapa tahun terakhir (Rateb dan Ebel, 2011). Salah satu organisme yang memiliki potensi penghasil senyawa adalah spons.

Spons merupakan salah satu biota laut yang sangat prospektif sebagai sumber senyawa bahan-bahan alami antara lain alkaloid, terpenoid, steroid, asetogenin, halida siklik, peptida, dan senyawa nitrogen. Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas farmakologis seperti antifouling, antitumor, anti-inflamasi, antivirus, antibakteri, dan antimalaria (Bara, 2007; Rompas, 2011; Rahman *et al.*, 2014; Blunt *et al.*, 2015).

Bertolak dari asumsi mengenai potensi metabolit sekunder yang dimiliki oleh hewan laut, kemudian berkembanglah penelitian untuk pemanfaatan metabolit sekunder bagi kesejahteraan manusia dalam bidang kesehatan. Pemanfaatan spons laut

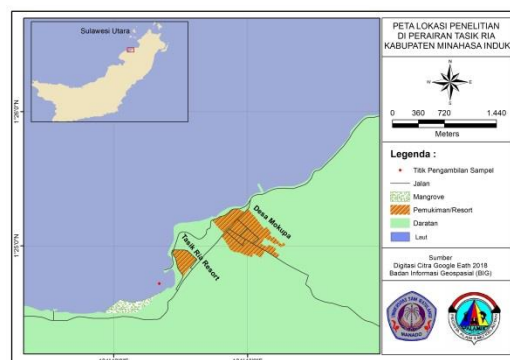
sekarang ini cenderung semakin meningkat, terutama untuk mencari senyawa bioaktif baru dan memproduksi senyawa bioaktif tertentu (Undap *et al.*, 2017).

Pengumpulan spesimen untuk pemanfaatan tersebut, pada umumnya diambil secara langsung dari alam. Maka peneliti merasa perlu untuk melakukan penelitian mengenai biota laut khususnya spons dalam upaya penemuan senyawa bioaktif antibakteri untuk dijadikan bahan baku obat-obatan yang dapat membunuh bakteri. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan beberapa spesies spons dari perairan Tasik Ria serta Menguji aktivitas antibakteri dari beberapa ekstrak spons terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Sampel diambil dari Perairan Tasik Ria (Gambar 4) melalui penyelaman, menggunakan satu set alat snorkling pada kedalaman 3-7 meter dari permukaan air laut. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2018.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel

Ekstraksi Spons

Spons yang diperoleh ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui berat basah spons, kemudian dibersihkan dipotong kecil-kecil berbentuk kubus/dadu lalu dimasukkan ke dalam botol plastik yang telah berisikan etanol 200 gr, semua botol sampel diberi label selanjutnya dimaserasi pada suhu ruangan selama 1x24 jam. Setelah dilakukan proses maserasi, kemudian difiltrasi dengan cara ekstrak spons yang akan diperoleh dari proses maserasi berbentuk larutan dan disaring menggunakan filter paper untuk memisahkan debris dan filtrat sampel. Filtrat kemudian diuapkan dengan alat rotary vacuum evaporator untuk memisahkan ekstrak kasar spons dari pelarut.

Sterilisasi Alat dan Media

Alat-alat yang digunakan untuk skrining antibakteri pada penelitian ini seperti tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri disk, dan beberapa peralatan gelas lainnya dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 150°C selama \pm 120 menit. Untuk sterilisasi media di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Ortez, 2005).

Pembuatan Media B1 dan Preparasi Bakteri

Media Cair B1

Media cair B1 ini dibuat untuk keperluan penelitian skrining antibakteri dari ekstrak spons. Media cair B1 digunakan untuk kultur bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), takaran masing-masing bahan untuk pembuatan media yakni: pepton 0,5 gram, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 gram, natrium klorida (NaCl) 0,3 gram, dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dan dilarutkan dalam aquades sebanyak 100 ml, kemudian dibuat homogen, selanjutnya ditutup dengan menggunakan kertas aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 15 menit.

Inokulasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Media Cair

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisikan media cair yang dibuat sebelumnya, kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas aluminium foil dan dibiarkan selama 1 x 24 jam (Ortez, 2005).

Media Padat B1

Media padat B1 (Gambar 6) dibuat dengan menggunakan bahan-bahan dengan takaran pepton 1 gram, ekstrak daging (*meat extract*) 0,6 gram, natrium klorida (NaCl) 0,6 gram, agar 6 gram, semuanya dimasukkan dalam gelas erlenmeyer dan dilarutkan dalam aquades sebanyak 200 ml. Media padat B1 dibuat untuk dua bakteri masing-masing sebanyak 200 ml, kemudian dibuat homogen menggunakan *magnetic stirrer*, setelah itu ditutup dan dibungkus menggunakan kertas aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 15 menit, selanjutnya media dibiarkan sampai suhu \pm 40°C kemudian masukkan bakteri yang telah dikultur dengan media cair B1 menggunakan mikropipet sebanyak 2 ml, kemudian ditutup kembali menggunakan aluminium foil dan diaduk dengan cara digoyang perlahan, setelah itu dituang ke dalam cawan petri disk yang sudah steril.

Penyiapan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif berfungsi sebagai tolok ukur dalam mengamati diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak sampel spons. Sedangkan kontrol negatif berguna untuk melihat apakah pelarut yang digunakan pada penelitian ini memberikan pengaruh terhadap zona hambat ekstrak sampel atau tidak. Kontrol positif akan dibuat dengan melarutkan 250 mg obat kloramfenikol dengan 250 ml aquades.

Sedangkan kontrol negatif hanya menggunakan pelarut metanol/CH₃OH.

Pembuatan Konsentrasi Sampel

Ekstrak kasar sampel spons pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 100 mg/ml dan diencerkan menggunakan pelarut metanol 100% menggunakan mikropipet. Selanjutnya masing-masing ekstrak sampel diujikan pada media bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Spons

Skrining antibakteri beberapa ekstrak spons menggunakan ekstrak kasar sampel spons dengan konsentrasi 100 mg/ml, kemudian ambil ekstrak sebanyak 50 µl menggunakan mikropipet dan ditotolkan pada setiap kertas cakram dan dimasukkan ke dalam wadah steril yang telah diberi label (Wikler *et al.*, 2009). Setelah semua kertas cakram ditotol dan dibungkus, kemudian kertas cakram dikeluarkan satu persatu dari wadah dan diletakkan di atas media padat B1 yang akan dibuat. Skrining antibakteri yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode difusi Agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Data akhir hasil olahan perangkat lunak surfer ditampilkan dalam bentuk peta, yaitu peta arah pergerakan dan kecepatan arus.

Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat

Setelah pentotolan ekstrak pada kertas cakram yang diletakkan pada media padat, diinkubasi pada suhu ruangan, setelah 24 jam aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak spons diukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar ekstrak spons dengan menggunakan penggaris dalam satuan (mm) dan diamati zona hambat ekstrak spons pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

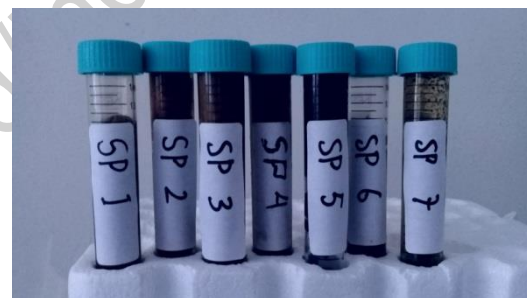
Identifikasi Spons

Dalam penelitian ini hasil identifikasi spons ditemukan sebanyak tujuh spesies yang terdiri dari: *Amphimedon* sp., *Axinosa* sp., *Aaptos* sp., *Theonella* sp., *Hyrtios* sp., *Cribochalina* sp. dan *Lendenfeldia* sp.

Pengeringan Ekstrak Kasar Spons

Sampel spons yang sudah menjadi ekstrak di evaporasi menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* selanjutnya dikeringkan menggunakan *freezedryer* (Gambar 15).

Ekstrak kasar yang telah di *freezedryer* (Gambar 16) ditimbang kembali agar dapat mengetahui berat akhir ekstrak untuk menentukan konsentrasi dari masing-masing ekstrak kasar.

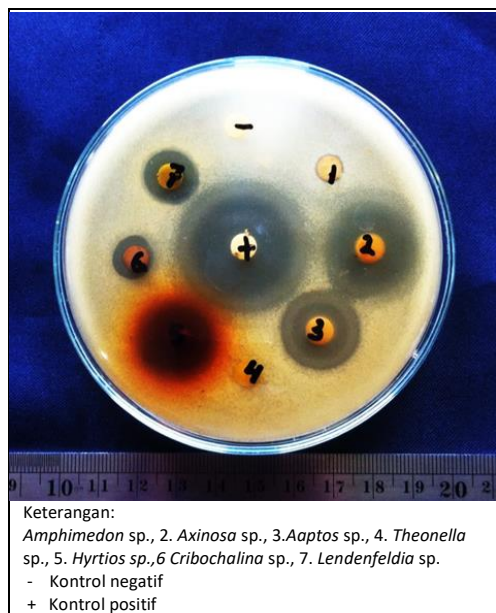


Gambar 2. Ekstrak yang telah dikeringkan menggunakan *Freezedryer*

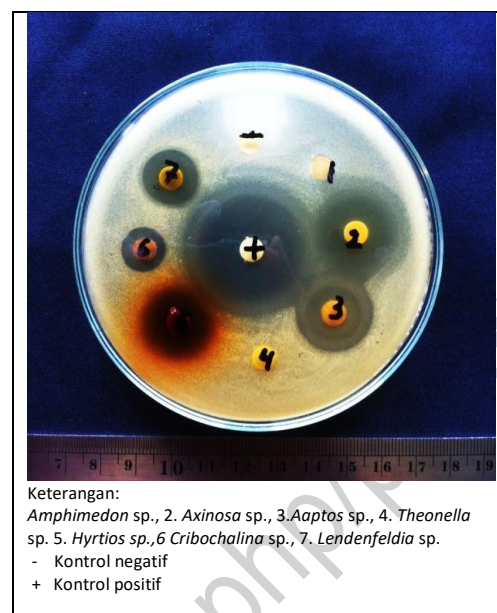
Skrining Aktivitas Antibakteri Spons

Setelah pengamatan selama 1 x 24 masa inkubasi dengan 2 kali pengulangan untuk masing-masing ekstrak spons terhadap kedua bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* mendapatkan hasil hambatan yang terbentuk disekitar ekstrak (daerah bening) menunjukkan kepekaan bakteri uji terhadap senyawa antibakteri maupun antibiotik (kloramfenikol) sebagai kontrol positif.

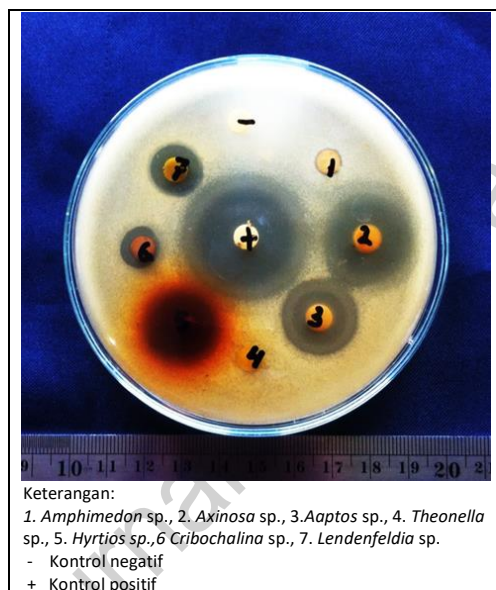
Aktivitas antibakteri ekstrak spons terhadap ke dua bakteri uji dapat dilihat pada (Gambar 3 dan 4).



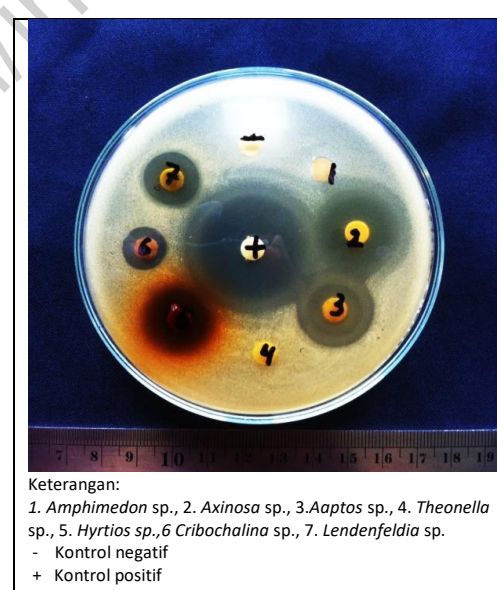
Gambar 3. a. Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak spons pada Media Bakteri *Escherichia coli* Percobaan 1



Gambar 4. a. Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak spons pada Media Bakteri *Staphylococcus aureus* Percobaan 1



Gambar 3. b. Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak spons pada Media Bakteri *Escherichia coli* Percobaan 2



Gambar 4. a. Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak spons pada Media Bakteri *Staphylococcus aureus* Percobaan 2

Tabel 1. Diameter Zona Hambat dari beberapa Ekstrak Spons terhadap Bakteri *Escherichia coli*.

No	Ekstrak spons	Berat kering	<i>Escherichia coli</i> Zona hambat (mm)		
			Percobaan 1	Percobaan 2	Rerata
1	<i>Amphimedon</i> sp.	4,981 g	-	-	-
2	<i>Axinoa</i> sp.	3,501 g	16	16	16
3	<i>Aaptos</i> sp.	2,612 g	13	13	13
4	<i>Theonella</i> sp.	2,119 g	-	-	-
5	<i>Hyrtios</i> sp.	1,571 g	13	14	13,5
6	<i>Cribochalina</i> sp.	1,810 g	10	11	10,5
7	<i>Lendenfeldia</i> sp.	1,047 g	12	14	13
Kloramfenikol (+)		-	22	22	22
Metanol (-)		-	-	-	-
Konsentrasi kontrol positif				250 mg/m	
Diameter kertas cakram				6 mm	
Daya serap kertas cakra				100 µl	
Banyaknya ekstrak dalam kertas cakram				50 µl	
Konsentrasi sampel dalam kertas cakram				100ml/mg	

Tabel 2. Diameter Zona Hambat dari beberapa Ekstrak Spons terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

No	Ekstrak spons	Berat kering	<i>Staphylococcus aureus</i> Zona hambat (mm)		
			Percobaan 1	Percobaan 2	Rerata
1	<i>Amphimedon</i> sp.	4,981 g	-	-	-
2	<i>Axinoa</i> sp.	3,501 g	18	15	16,5
3	<i>Aaptos</i> sp.	2,612 g	15	15	15
4	<i>Theonella</i> sp.	2,119 g	-	-	-
5	<i>Hyrtios</i> sp.	1,571 g	13	14	13,5
6	<i>Cribochalina</i> sp.	1,810 g	11	11	11
7	<i>Lendenfeldia</i> sp.	1,047 g	14	15	14,5
Kloramfenikol (+)		-	21	21	21
Metanol (-)		-	-	-	-
Konsentrasi kontrol positif				250 mg/m	
Diameter kertas cakram				6 mm	
Daya serap kertas cakram				100 µl	
Banyaknya ekstrak dalam kertas cakram				50 µl	
Konsentrasi sampel dalam kertas cakram				100ml/mg	

Data tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari beberapa ekstrak spons terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* terdapat diameter zona hambat bervariasi. Bakteri *Escherichia coli* menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak spons terkuat sebagai berikut: ekstrak spons *Axinoa* sp (16 mm), diikuti ekstrak spons *Hyrtios* sp. (13,5 mm), ekstrak spons *Aaptos* sp. (13 mm),

ekstrak spons *Lendenfeldia* sp. (13 mm) dan ekstrak spons *Cribochalina* sp. (10,5 mm). Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak spons terkuat sebagai berikut: ekstrak spons *Axinoa* sp. (16,5 mm), diikuti ekstrak spons *Aaptos* sp. (15 mm), ekstrak spons *Lendenfeldia* sp. (14,5 mm), ekstrak spons *Hyrtios* sp. (13,5 mm) dan ekstrak spons *Cribochalina* sp. (11

mm). Dibandingkan dengan kontrol positif (kloramfenikol) bahwa senyawa dari ekstrak spons mempunyai zona hambat yang lebih besar. Kontrol positif sebagai pembanding memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak spons yang dikoleksi dari Perairan Tasik Ria digolongkan sebagai senyawa yang bersifat sedang/moderate (Patel *et al.*, 2014).

Pada penelitian ini ekstrak spons menunjukkan adanya bioaktivitas beberapa ekstrak spons yang berpotensi membunuh bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus*. Dalam penelitian ini tampak bahwa kloramfenikol lebih efisien dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kontrol negatif berfungsi untuk memperlihatkan apakah metanol berpengaruh pada ekstrak atau tidak. Kontrol negatif menunjukkan perbedaan terhadap ekstrak sampel uji. Dalam penelitian ini, kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat pada skrining antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif tidak berpengaruh pada skrining antibakteri beberapa ekstrak spons.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Telah di peroleh tujuh spesies spons dari Perairan Tasik Ria di antaranya: *Amphimedon* sp., *Axinosa* sp., *Aaptos* sp., *Theonella* sp., *Hyrtios* sp., *Cribochalina* sp., dan *Lendenfeldia* sp. Pada penelitian ini tampak bahwa kloramfenikol lebih efisien dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*.

Saran

Perlu adanya pemurnian ekstrak dari spons yang ada aktivitas antibakteri dan perlu dilakukan pengujian antibakteri spons dengan jenis bakteri yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Bara, R. 2007. Study Metabolic Rate and Metabolism in the Spons *Haliclona oculata* Using Different ¹³C Labeled Substrates. Thesis. Wageningen University, Netherlands. Hal. 47.
- Blunt, J. W., Copp, B., R., Keyzers, R. A., Munro, M. H. G., Prinsep, M. R. 2015. Marine Natural Products. Nat. Prod. Rep. 32. DOI: 10.1039/c4np00144c. Hal. 116–211.
- Dault, A. 2009. Pemuda dan Kelautan. Sumber Daya Kelautan. PT. Citra Aji Parama, Yogyakarta. Hal. 18–19.
- Darajati, W., S. Pratiwi, E. Herwinda, A., D., Radiansyah, V., S., Nalang, B., Nooryanto, J., S., Rahajoe, R., Ubaidillah, I., Maryanto, R., Kurniawan, T., A., Prasetyo, A., Rahim, J., Jefferson, F., Hakim. 2016. Indonesian Biodiversity Strategy and Action Plan 2015–2020. (E. S. S. Endah Murniningtyas, Wahyuningsih Darajati & Tim, Eds.). Kementerian Perencanaan Pembangunan Nasional/ BAPPENAS.
- Ortez, J. H. 2005. Disk Diffusion Testing in Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. Marie B. Coyle (Coord Ed). American Society for Microbiology.
- Rompas, R. 2011. Farmakognosi Laut (Sumber Baru Ekonomi Kelautan). Dewan Kelautan Indonesia, Jakarta. Hal. 21.
- Rahman, H. Usman., A. Ahmad. 2014. Isolasi, Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Spons *Petrosia alfiani* dari Kepulauan Barrang

Lompo. FMIPA UNHAS, Makassar. Hal. 1-5.
Undap, N.I.J., Sumilat, D.A., Bara, R. 2017. Aktivitas Antibakteri Spons *Agelas tubulata* dan *Phyllospongia* sp. dari Perairan Pantai Malalayang Manado Terhadap Pertumbuhan Beberapa Strain Bakteri. *Jurnal Ilmu dan Manajemen Perairan*. ISSN: 2337-5000. (Accepted). 5(1).

Wikler, M. A., F. R., Cockeril, K. Bush, M. N. Dudley, J. M., Eliopoulos, D. J. Hardy, D. W., Hecht. 2009. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard 10th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania, USA. Hal. 11-17.

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax